

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-94231

(43) 公開日 平成9年(1997)4月8日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 B 5/00			A 6 1 B 5/00	N
5/14	3 1 0	0277-2 J	5/14	3 1 0
G 0 1 N 27/327			G 0 1 N 33/49	Z
33/49			27/30	3 5 3 F

審査請求 未請求 請求項の数4 書面 (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平7-287767

(22) 出願日 平成7年(1995)9月29日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成7年3月14日  
 社団法人日本化学会発行の「日本化学会第69春季年会  
 1995年講演予稿集▲ I I ▼」に発表

(71) 出願人 391034994

国立身体障害者リハビリテーションセンタ  
 一総長

埼玉県所沢市並木4丁目1番地

(72) 発明者 碓山 義人

埼玉県所沢市並木4丁目1番地 公務員住  
 宅5-205

(72) 発明者 外山 滋

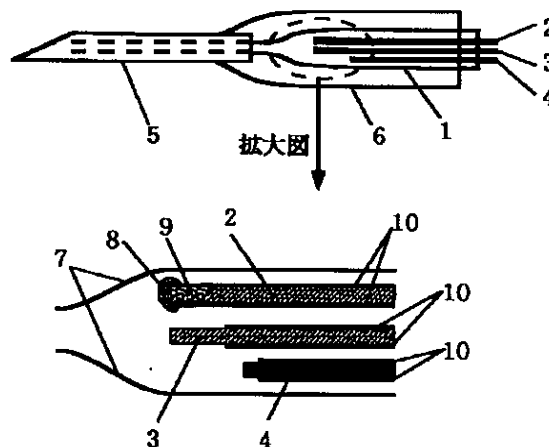
埼玉県所沢市並木4丁目1番地 公務員住  
 宅B-104

(54) 【発明の名称】 ミクロ針状酵素電極と音声告知デバイスを用いた皮膚挿入型バイオセンシングデバイス

(57) 【要約】

【構成】 本発明は生体機能物質固定化ミクロ電極系を微小注射針に装着し、さらに血液を自然吸引できるデバイスにして、これを血糖値などの測定に応用できるようにしたうえで、このデバイスを用いて非定常法で電流計測し、その結果を音声等で告知するようにする。

【効果】 本発明はミクロ白金黒電極2に生体機能物質を固定化し、対電極3と参照電極4とともに微小注射針5の内部に装着し、挿入針の反対側を毛管現象で血液を吸引できるように解放し、この微小針に血液を吸引し、血液中の測定対象物質を非定常法で電流計測するとともに、出力を音声化デバイス12、13、14、15、16、17を通して告知することによって盲人や高齢者が容易に健康の自己管理することに役立てられる。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ミクロ酵素電極、対電極、そして参照電極を内部に保持させた微小針を皮膚に挿入するだけで、血液が微小針内部に吸引され血液中の特定成分が計測される方式のバイオセンシングデバイス。

【請求項2】 請求項1において計測データを表示もしくは点字、音声で告知する方式のデバイス

【請求項3】 請求項1において本電極を用いた非定常計測法。

【請求項4】 請求項2において計測結果を告知する方法

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】この発明は、生体機能物質の分子識別機能を利用して生体物質を計測するマイクロ生体機能電極から成る微小針状皮膚挿入電極に関するものである。特に生体機能物質を多孔性電極に固定化して作製したマイクロ電極による非定常計測デバイスおよびそれを用いた非定常計測法および計測値の告知法に関するものである。この場合生体機能物質としては酵素、抗体、そして結合タンパク質を含む生体高分子である。

## 【0002】

【従来の技術】血糖値などの生化学検査項目の測定方法には数多くの方法が提案されている。既に本発明者らは白金黒表面への生体機能物質の包括固定化が可能であることを見出し、これを利用した固定化生体機能電極を作製することに成功し、特許出願した（平成6年公告番号6-75054号及び昭和63年公開番号63-222256号）。さらに、本固定化電極を用いた静止微量サンプルの測定が可能な分析システムとこれを用いた電気化学的非定常法に基づく分析法を開発し特許出願した（平成3年公開番号2-38854号）。

【0003】この方法は、試料溶液の採取量を規定する必要がなく、微量の静止試料の測定や無希釈測定を特徴とする点で、バイオセンサの適用可能性を大きく広げたものであった。ところが、固定化酵素電極を電気化学的非定常法を適用したとき、その応答電流はブランク溶液に対して0とはならないが、これを解決するには予備的な定電位パルスを印加した後、一定の開回路状態に保ったのち本測定パルスを印加する方法で解決できることを見出し特許出願した（平成2年出願番号2-93991）。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】現在の血糖値などの測定においては、針を用いて皮膚から出血させ、ついでセンサ電極に吸引、所定時間後に液晶ディスプレイに表示する方法が採られている。この二段階の操作は目の見える人にも煩瑣であるが、糖尿病性網膜症やベアチュット病を患っている盲人の人達にはかなりの教育訓練を要する。

【0005】そこで、この発明は皮膚に挿入するのみで微量の血液を吸引し、ついで上記非定常測定法を適用すると極めて簡単に血中の代謝関連物質を迅速に、しかも容易に測定できることを示す。本発明に基づいて盲人にも使用できる計測デバイスをつくり、しかも計測値を音声で告知できるデバイスを作製することが可能なことを呈示する。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】本発明は、上記の問題点を解決するために、微小酵素電極を注射針内部に組み込み、注射針を皮下に穿刺したときに血液を吸引し、血中グルコース量を非定常法で測定するための電極、およびその測定方法、その測定結果の告知方法を提供する。

【0007】この発明において用いる微小生体機能電極ならびに分析システムは、出願特許（平成3年公開番号2-38854号）に述べられている非定常応答を用いた分析システムである。すなわち、平成6年公告番号6-75054号および昭和63年公開番号63-222256号に述べられているように、白金などの微粒子から構成された微小電極の表面に酵素などの生体機能物質を包括固定化した微粒子層を有する構造の電極を作用電極とし、銀・塩化銀などの参照電極ならびに対極を備えた三電極を有する電気化学システムであり、その構造の一例を図1に示す。図1において、作用電極2は生体機能物質（例えばグルコース酸化酵素）を包括固定化した微小白金黒電極9であり、直径が例えば、約1 $\mu$ m～500 $\mu$ mの範囲の微小電極である。これに側面をテフロン10で被覆した白金線の対極3と銀・塩化銀参照電極4とをもって構成したものがセンサ素子である。以上の三電極、すなわち、微小固定化酵素電極2、対極3と参照電極4は、微小注射針5の内部に挿入したものである。このような針型センサ6は、細い金線線を3本挿入しただけの構造であるから、微細加工技術を用いれば、これら全体を非常に微小なセンサに構成することもできる。

【0008】このセンサ素子を用いれば、例えば数 $\mu$ l程度の微量試料でも測定可能である。即ち、微量試料を吸引した後に電位を印加し、このときに発生する電流値を過度応答法で検知する方式によって、微量試料中の物質を検知できるものである。さらにこの電流値を音声として盲人に告知することもできる。

【0009】上に述べた分析システムを用いた、定電位パルスに対する非定常電流応答を記録してセンサ応答を得るが、単純パルスに対する応答では、測定対象物質を含まない溶液に対しても、無視し得ないほどのファラデー電流が観測される。従来、ブランク測定が必要とされたのは、この電流を差し引く必要があったためである。この問題点は夾雑物質の予備酸化、そして開回路状態での電極活物質の酵素反応による蓄積、本パルスでの酸化検出によって解決できることを既に示した（平成2年出

願番号2-93991)。

【0010】この発明は図1に示すように、以上の原理を活用し皮膚に挿入するのみで計測対象物質濃度を計測し、しかも音声で告知することによって、盲人にも自ら健康管理できるデバイスを提供しようとするものである。

【0011】

【作用】一般に血液サンプルや血清サンプルに対するセンサ応答は、サンプル溶液に含まれる易酸化性不純物に対する応答と測定対象物質に対する応答の和である。以下の説明ならびに実施例においては、標準グルコース溶液そして血液および血清中のグルコースを測定対象とした場合を例として述べる。この場合、電極に固定化したグルコース酸化酵素によってグルコースが酸化されるが、この際生成した過酸化水素を電気化学的にパルス酸化し、出力電流を検知するとグルコースが測定できることになる。この出力電流を読み取り、情報処理すると音声化が可能である。従って、以下の記述においては、マイクロ酵素電極等を内在させた微小針を血清あるいは血液に挿入しグルコース濃度に対応した電流が検知できることを明らかにし、出力信号を音声化する。以上のことを証明したうえで皮膚挿入型グルコースセンサとして使用できることを明らかにし、視力障害者のための音声告知型グルコースセンシングデバイスとして提供できることを明らかにするものである。

【0012】

【実施例1】挿入針型センシングデバイスの作製

図1に示したデバイスは以下の手順によって作製した。微小ソーダガラス管1の一端を加熱しつつゆっくり引っ張ることによってキャピラリ管を作製した。その内部に微小白金黒に固定化した酵素電極2、側部をテフロンチューブで被覆した対電極3、そして同じくテフロンチューブ10で被覆した銀を析出させた銀・塩化銀参照電極4を挿入した。血液や血清に適用する場合には、微小酵素固定化白金黒電極あるいは三本の電極すべてを必要に応じて毛細管1を保護するために直径2~3mmのガラス管6で補強し、ポリビニルピロリドンやナフィオンの薄膜8で被覆した。なおキャピラリ管を微小注射針5に装着し、他端を開放し毛管現象によってサンプルを吸引するようにした。測定結果の酸化電流は計測器を用いて測定するか、もしくは直接実施例2の音声化デバイスに取り込み、音声出力できるようにする。すなわち、血液もしくは緩衝液等のサンプルが実施例1のデバイスに吸引されると酵素電極と対電極の間には酸化電流が流れるので、コンピュータにより実施例1のデバイスにサンプルが吸引されたことが認識される。この瞬間より所定の時間、例えば10秒間、ポテンショスタットが電位固定モードに保たれることによって、実施例1のデバイスは予備酸化状態におかれる。さらにこの予備酸化状態の後より所定の時間、例えば10秒間、ポテンショスタ

ットが開回路モードに保たれることによって、実施例1のデバイスは開回路状態におかれる。しかる後に、再びポテンショスタットが電位固定モードに設定されることにより、実施例1のデバイスは再酸化状態におかれる。さらに、再酸化状態に入ってより所定の時間、例えば40ミリ秒経過した後に、酵素電極と対電極の間に流れる電流がコンピュータによって読み取られる。このようにして作製した注射針型センシングデバイスを用いて、この発明に関する測定および音声化を行った。

【0013】

【実施例2】デバイスからの信号の処理法および音声化デバイスの作製

実施例1のデバイスを駆動し酵素電極に流れる電流より血液もしくは緩衝液等のサンプル中のグルコース濃度を測定し、さらにこの値を音声にて告知する装置の構成例、を図2に示す。

【0014】実施例1のデバイス11のマイクロ固定化生体機能電極と参照電極と対電極は本装置の一部をなすポテンショスタット12と接続されている。ポテンショスタットには開回路モードと電位固定モードとの二つのモードがあり、これらのモードはポテンショスタットに接続されたコンピュータから出力される信号により切り替えられる。ポテンショスタットが開回路モードにおいては、実施例1のデバイスとポテンショスタットとの間の接続は回路的に遮断される。また、ポテンショスタットが電位固定モードにおいては、参照電極を基準としてマイクロ固定化生体機能電極には電位設定回路により例えば0.6Vに設定された電圧が印加されるが、このとき参照電極に電流が流れないように、対電極と参照電極との間に加えられる電圧がポテンショスタットにより制御される。なお、電位固定モードにおいては、マイクロ固定化生体機能電極から対電極に流れる電流がポテンショスタットにより電圧に変換され出力されるが、この電圧信号はアナログディジタル変換器13によってディジタル信号に変換されてコンピュータ14に入力される。コンピュータにはディジタルアナログ変換器15とアンプ16を介してスピーカ17が接続されており、コンピュータから出力されたディジタル信号はこれらの装置を介して音声として出力される。

【0015】このように構成された装置は、実施例1のデバイスに吸引された血液もしくは緩衝液等のサンプルに含まれるグルコース濃度を測定し、その値を音声にて出力する。本装置の一部をなすポテンショスタットは電源投入時には電位固定モードにあり、この状態では生体機能物質としてグルコース酸化酵素を固定化したマイクロ電極と対電極の間には電流が流れていない。実施例1のデバイスの出力電流は、あらかじめコンピュータに記憶させた電流値とグルコース濃度の対応表もしくは計算式によりグルコース濃度が算出されることになるとともに、コンピュータはこのグルコース濃度の算出値を音声

5

データに変換する。すなわち、コンピュータの記憶回路にはあらかじめ血糖値の告知に必要な単語ごとに対応した音声データ、例えば0から9の数値に対応した音声データ等が録音されデジタル値に変換されて記憶されており、上記グルコース濃度の各桁に対応した音声データを選び出して順に接続する。この複合化された音声データはコンピュータに接続されたデジタルアナログ変換器によりアナログ信号に変換され、アンプを介してスピーカより音声信号として出力される。

【0016】

【実施例3】 デバイス応答のグルコース標準溶液での応答特性

実施例1のバイオセンシングデバイスを用いて採取されたリン酸緩衝液で調整したグルコース標準溶液に対して、この過渡応答（非定常応答）を信号処理し、音声で測定結果を告知した。このときの測定値とグルコース濃度との関係を図3に示す。この場合は電極系は必ずしもポリビニルピロリドンやナフィオンで被覆する必要はない。

【0017】

【実施例4】 デバイス応答の血中グルコース濃度依存性

実施例1の皮膚挿入型バイオセンシング装置を用いて採取された血液に対して、前特許（平成2年出願番号2-93991号）に示した定電位（銀・塩化銀参照電極に対して0.6V）予備パルスで10秒間与えた後開回路状態を10秒間保ち、最後に0.6Vの測定パルスをかけて発生する酸化電流を測定する。この電流信号を音声化デバイス（実施例2）で音声化してグルコース値を告知する。なおこの場合にはマイクロ酵素電極はポリビニルピロリドンとナフィオンで被覆した。

【0018】この方法で得られるグルコース濃度とグルコースキナーゼおよびグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼを用いた臨床化学分析で得られるグルコース濃度を比較した結果を図4に示す。ここでは、血液サンプルとグルコースの標準サンプルの計測告知値をプロットしているが両者とも同一測定曲線にのることが示されている。

【0019】

【発明の効果】マイクロ生体機能電極を微小注射針に装着した皮膚挿入型バイオセンシングデバイスを血中グルコースの測定に適用したところ、皮膚に挿入するだけで所定量の血液を吸引するとともに、前処理用の予備パルスをかけた後、開回路状態に保ち所定電位（0.6V）に

6

設定するとグルコース濃度に相当する酸化電流を発生することが明らかになった。このことは、所定量の血液を採取することを前提としている従来型のセンシングデバイスが盲人には極めて使い難かった最大の難点を克服するものである。さらに過渡応答法を採用することによって極めて迅速な測定が可能である。本デバイスは測定結果を音声で告知するデバイスと一体化することによって、盲人自らが他者に依存することなく血糖値を管理できるセンシングデバイスを提供するものである。

10 【0020】以上を要するに、本発明の技術的効果は皮膚に挿入するだけで視力障害者に血糖値を知らせてくれるデバイスを提供することによって、血糖値の自己コントロールが極めて容易になることにある。このようなデバイスは盲人のみでなく高齢者や糖尿病などの成人病を患っている人にも使えることはいうまでもない。

【図面の簡単な説明】

【図1】この発明を構成する微小針型センシングデバイスの構成例である。

20 【図2】この発明において用いる音声化デバイスの模式図である。

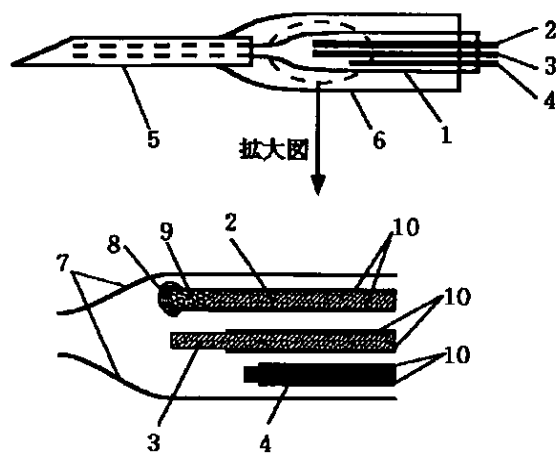
【図3】この発明において用いるマイクロ針状酵素電極と音声告知デバイスを用いた皮膚挿入型バイオセンシングデバイスによるグルコース標準溶液での応答特性である

【図4】 実施例1および2のデバイスを用いて得られた血中グルコース測定値と臨床生化学的方法で得られたグルコース値との相関関係

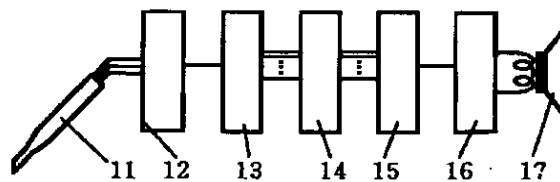
【符号の説明】

- 1 ガラス製キャピラリ管
- 2 作用電極（マイクロ酵素固定化白金黒電極）
- 3 白金対極
- 4 銀・塩化銀参照電極
- 5 微小注射針
- 6 補強用ガラス管
- 7 ガラス製キャピラリ管（1と同じ）
- 8 被覆膜
- 9 酵素固定化白金黒
- 10 テフロンコーティング剤
- 11 微小針型センシングデバイス
- 12 ポテンシオスタット
- 13 アナログデジタル変換器
- 14 コンピュータ
- 15 デジタルアナログ変換器
- 16 アンプ
- 17 スピーカ

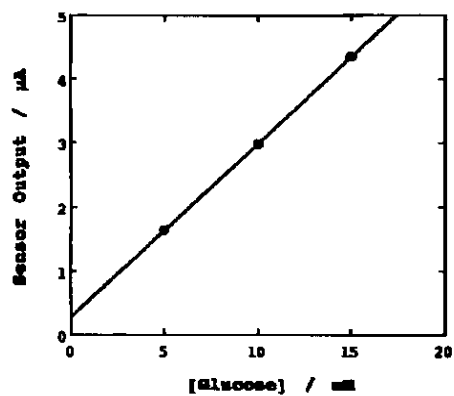
【図1】



【図2】



【図3】



【図4】

